

Professeur Benoît Jaulhac

## Le 100<sup>ème</sup> système Bruker MALDI Biotyper (identification microbienne) installé au plateau technique de microbiologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Le Professeur Benoît Jaulhac, responsable du laboratoire de Bactériologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, nous présente les raisons de son choix, fait le point sur son expérience de la méthode et évoque les perspectives de la spectrométrie de masse en microbiologie.

**Spectra Biologie :** Professeur Jaulhac, pouvez-vous nous présenter votre laboratoire ?

**B. Jaulhac :** Notre structure est un peu particulière. Notre bâtiment regroupe les activités de microbiologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg : bactériologie, virologie, parasito-mycologie et hygiène. Notre plateau technique de microbiologie travaille aussi pour des établissements extérieurs et des laboratoires privés environnants. Nous avons par exemple une activité assez ouverte dans le cadre de la sérologie bactérienne vis-à-vis des établissements hors CHU. Nous sommes prestataire de services pour environ 150 laboratoires qui nous transmettent entre 1 sérum par an et plusieurs sérums par jour. Nous sommes Centre National de Référence pour les *Borrelia*. Notre ouverture vers les laboratoires extérieurs est une longue tradition datant d'une quarantaine d'années. Nos bonnes relations avec les laboratoires privés de l'agglomération de Strasbourg et les autres sont peut-être dues au fait que nous avons formé en bactériologie et en parasitologie de nombreux collaborateurs avec qui nous avons gardé de bons rapports.

**Spectra Biologie :** Quel est votre volume d'activité ?

**B. Jaulhac :** Notre d'activité en bactériologie est comprise entre 26 et 27 millions de B et BHN confondus par an ; la virologie représente entre 20 et 21 millions de B et BHN ; la parasitologie se situe à 8 millions de B et BHN. Les effectifs sont restés stables depuis l'ouverture du plateau à l'automne 2010. Nous recevons par jour entre 400 et 600 prélèvements de bactériologie, 60 à 80 prélèvements de mycologie auxquels s'ajoutent les prélèvements d'hygiène. Nos pics d'activité ont lieu le lundi et le mercredi.

**Spectra Biologie :** Depuis quand utilisez-vous un spectromètre de masse BRUKER ?

**B. Jaulhac :** Nous avons commencé par une évaluation en 2008. Je pense que nous avons été l'un des premiers CHU à essayer un Spectromètre de masse BRUKER. Nous avons alors procédé à des tests d'utilisation pendant plusieurs semaines pour évaluer ses performances et certaines applications de la méthode. Nous avons par exemple évalué l'utilisation directe de la spectrométrie de masse sur hémocultures et nous avons publié nos travaux. Nous souhaitons mesurer ce que nous pouvions attendre de cette méthode dans les différents domaines de la bactériologie.

**Spectra Biologie :** Pour quelles raisons avez-vous choisi une solution BRUKER ?

**B. Jaulhac :** Lors de notre première acquisition, BRUKER avait une longueur d'avance sur ses concurrents. Déjà leader au service des laboratoires de recherche, BRUKER mettait à notre disposition une base de données plus intéressante car à la fois environnementale et clinique. Tout laboratoire de CHU fait pas mal d'identifications de bactéries environnementales qui sont délicates avec les outils phénotypiques classiques, souvent développés pour les bactéries médicales. Ces contaminants prennent beaucoup de temps à identifier. Nous savions par ailleurs que le laboratoire d'hygiène allait nous rejoindre sur notre plateau technique et que nous allions partager cet outil.

**Spectra Biologie :** De quand date votre première acquisition et comment cette méthode s'est progressivement imposée dans vos laboratoires ?

**B. Jaulhac :** En 2009, nous avons pris la décision d'acquérir un premier appareil Bruker MALDI Biotyper™. Il a été installé au service de bactériologie au printemps 2010. Les référents ont été formés et nous avons travaillé en routine à l'été 2010. Nous avons emménagé dans nos locaux communs du plateau de microbiologie à l'automne 2010. La parasitologie a commencé à l'utiliser au printemps 2011. Le laboratoire d'hygiène hospitalière l'a ensuite utilisé pour l'identification environnementale début 2012. L'utilisation croissante de cet outil aidant, nous avons commencé à ressentir des problèmes de capacité de fonctionnement liés à la charge de travail de la machine. Tous les secteurs du laboratoire souhaitant notamment l'utiliser le matin, nous avons dû établir des plannings avec des ordres de priorités.

Courant 2012, nous avons fait le constat que seul le doublement de notre équipement apporterait la solution à nos difficultés. L'augmentation des volumes et l'élargissement du champ d'application nous avaient conduits à cette situation. Nous avions aussi pu mesurer tout l'apport de cette méthode d'identification. A ce stade, j'étais personnellement convaincu que la spectrométrie de masse s'imposait comme une révolution technologique majeure aussi nette que la biologie moléculaire en bactériologie.

## Publi-reportage

**Spectra Biologie : Votre personnel s'est-il bien adapté à la méthode ?**

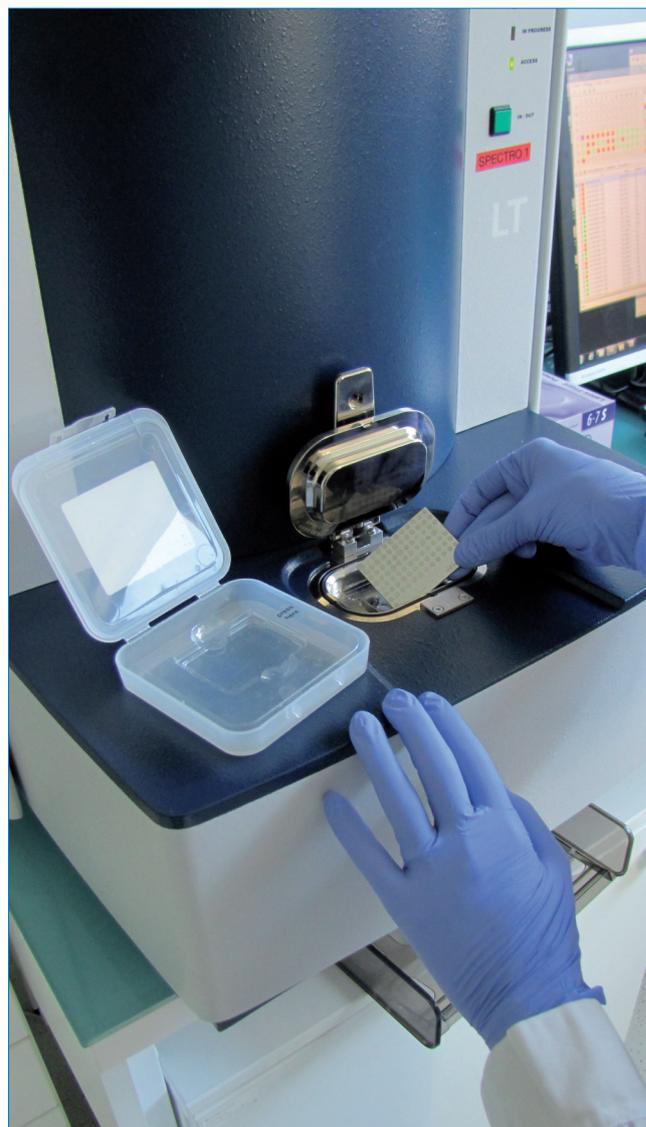
**B. Jaulhac :** La précision et la rapidité d'identification apportées par la méthode sont un attrait pour le personnel. Face à la puissance de l'outil, aucun regret n'a été exprimé, y compris par nos techniciennes les plus expérimentées. Tout le monde a pris conscience de l'intérêt pour le patient. Une identification faite auparavant après 10 jours amenait à se poser la question de l'intérêt clinique de le faire. Aujourd'hui, il faut très peu de culture pour faire une analyse en Maldi-TOF. L'après-midi, dès que la culture commence à pousser, on peut en consacrer un tout petit peu au repiquage pour conserver la souche et prélever le reste pour le mettre sur le spectromètre de masse et une demi-heure plus tard, décider de ce qui sera fait le lendemain. Une information peut être donnée au clinicien pour sa contre visite du soir. Nous avons supprimé définitivement l'identification phénotypique, à l'exception de quelques très très rares tests. La question qui se pose actuellement est la suivante : est-il encore utile de former les jeunes bactériologistes à l'identification traditionnelle ? Nous n'avons pas franchi le pas pour deux raisons : d'une part pour aiguïser le sens critique (je ne crois pas la machine sans vérifier certaines données), et d'autre part parce que les laboratoires privés et hospitaliers ne sont pas encore tous équipés.

**Spectra Biologie : En 2013 vous avez fait l'acquisition d'un deuxième système Bruker MALDI Biotyper™. Votre décision était-elle uniquement motivée par des problèmes de planning d'utilisation ?**

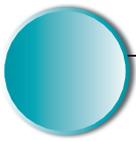
**B. Jaulhac :** Au-delà de nos problèmes de plannings, deux autres raisons majeures ont été à l'origine de notre décision de réaliser cette nouvelle acquisition. Tout d'abord, nous étions convaincus de l'extension du champ d'action de la spectrométrie de masse dans nos disciplines. Par exemple, en 2009, l'identification des bactéries anaérobies était pauvre, mais la littérature qui apparaissait nous a persuadés que ce n'était qu'un « problème » de base de données. De plus, notre démarche d'accréditation nous a incités à dupliquer cette méthode, jugée comme efficace, précise et rapide, pour faire face aux éventuels incidents rendant un appareil indisponible. En 2012, nous avons fait la demande d'inscription au plan d'équipement 2013 d'un deuxième spectromètre de masse BRUKER. Un incident survenu durant l'été 2013 a démontré la justesse de notre décision. Nous n'avions encore qu'une seule machine. Une panne nous a contraints à revenir aux méthodes d'identification classiques. Nous avons alors constaté que nous n'avions plus l'habitude d'attendre aussi longtemps. Nous avons aussi pu mesurer très concrètement notre augmentation d'activité depuis l'ouverture du plateau technique de microbiologie. Les deux automates d'identification traditionnelle ne suivaient pas. Nous avons donc pu confirmer l'amélioration de notre efficience à personnel constant.

**Spectra Biologie : Le mode de fonctionnement avec deux Bruker MALDI Biotyper™ s'est-il bien adapté à votre organisation multi disciplinaire ?**

**B. Jaulhac :** Sur l'ensemble du plateau, nous avons fait



un travail de mutualisation avec le personnel technique et le personnel de secrétariat. L'activité pré-analytique est regroupée dans un accueil commun des prélèvements. Tous les équipements ayant un intérêt transdisciplinaire sont mutualisés pour l'ensemble des spécialités des services de microbiologie et d'hygiène. Nous avons choisi un mode de fonctionnement adapté à notre organisation en collaboration avec BRUKER. Nous disposons d'un concentrateur avec une base de données commune et des machines en parfait miroir. Les deux appareils fonctionnent simultanément. L'attente n'excède pas le temps de passage d'une plaque. L'identification a ainsi exactement les mêmes performances, quelle que soit la machine utilisée. Toute la solution a été installée par BRUKER. Un nouveau logiciel de gestion des plaques permettant la distribution du travail, développé par la société INFO PARTNER, a été installé sur le concentrateur. Les procédures d'entretien sont identiques et toute mise à jour est faite le même jour sur l'ensemble de la solution. Biologistes et techniciens, nous sommes tous très satisfaits de cette configuration.



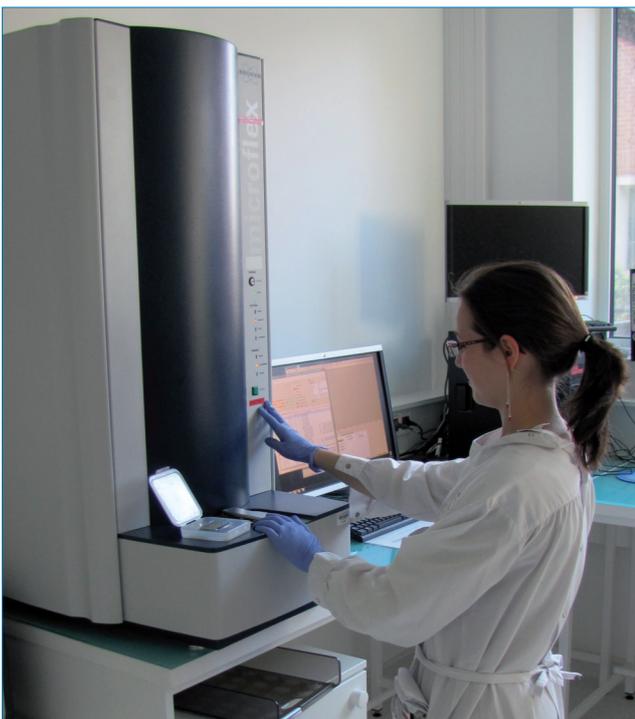
## Le 100<sup>ème</sup> système Bruker MALDI Biotyper (identification microbienne) installé au plateau technique de microbiologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (SUITE)

**Spectra Biologie : La solution est connectée avec d'autres équipements ?**

**B. Jaulhac :** Nous avons une connexion entre le Système d'information du Laboratoire GLIMS et la solution INFO PARTNER. Le concentrateur pilotant les deux Bruker MALDI Biotyper™ est connecté à la fois avec la solution INFO PARTNER et avec le VITEK® 2 pour que l'information de l'identification parte dans le VITEK® 2 dès sa validation. Le logiciel expert du VITEK® 2 fait l'interprétation de l'antibiogramme en fonction de l'identification bactérienne. Suite à l'ajout du deuxième appareil, la montée en charge a été progressive et les nouvelles interfaces ont été très vite prises en main par les utilisateurs.

**Spectra Biologie : Combien de personnes sont en charge du bon fonctionnement de la solution ?**

**B. Jaulhac :** Dès le début, BRUKER a formé trois personnes référentes qui prennent en charge le fonctionnement quotidien, l'installation des mises à jour et les opérations de maintenance. Comme il y a peu de problèmes à gérer, 3 personnes sont suffisantes pour que nous ayons toujours un référent disponible, et ce pour l'ensemble du parc des deux machines. Ces référentes ont formé leurs collègues et forment aussi les nouveaux arrivants. Nous avons actuellement près de 50 utilisateurs de la solution appartenant aux trois services (bactériologie, parasito-mycologie et hygiène), certains n'intervenant que le samedi ou le dimanche. Les appareils fonctionnent 7 jours sur 7, du matin au soir. Nous ne faisons pas d'identification pendant les gardes de nuit. Les référents sont aussi chargés de diffuser l'information, les nouvelles procédures, les évolutions et de recueillir les besoins pour faire évoluer l'interface utilisateur si nécessaire.



**Spectra Biologie : Avez-vous constaté un gain de temps par rapport aux méthodes traditionnelles ?**

**B. Jaulhac :** En 2009, avant notre première acquisition, nous avons procédé à une évaluation du temps technicien sur un appareil disponible à la Faculté de Médecine. Nous avons constaté que sur les identifications de bactéries simples, qui constituent la grande majorité de notre activité, le gain de temps se trouve au niveau du rendu de réponse mais pas sur la manipulation technique. Faire une identification dans les règles imposées par l'accréditation prend en effet plus de temps que de faire juste un dépôt, mettre la plaque dans la machine et sortir le résultat. Nous avons par exemple décidé de faire deux dépôts par sécurité, il faut aussi enregistrer les témoins, valider le nettoyage des plaques, etc. Nous avons d'emblée fait notre évaluation en tenant compte de toutes les étapes de notre procédure. On gagne toutefois indiscutablement du temps sur l'identification des germes à problèmes.

**Spectra Biologie : Une réduction des coûts d'exploitation a-t-elle permis un amortissement rapide de votre investissement ?**

**B. Jaulhac :** C'est très clair sur les réactifs et consommables. Pour nous, l'achat du spectromètre de masse a été rentabilisé en 2 ans et demi. La question pour un laboratoire est d'avoir la taille suffisante pour amortir cet équipement.

**Spectra Biologie : Pouvez-vous nous faire part des avantages de cette méthode d'identification en bactériologie ?**

**B. Jaulhac :** La qualité de l'identification est bien meilleure, plus précise. Des bactéries pour lesquelles nous n'identifions que le genre est une situation qui est devenue très rare. L'exactitude de l'identification est aussi montée d'un cran. Nous sommes devenus extrêmement exigeants et on ne rend que des résultats dont nous sommes totalement sûrs. J'ai ainsi pu mesurer le nombre d'identifications sur prélèvements importants pour lesquels nous devions auparavant utiliser une méthode de biologie moléculaire par séquençage d'ADN. Entre le début de notre premier spectromètre de masse et aujourd'hui, nous avons divisé par quatre le nombre de bactéries identifiées par séquençage. Cela profite directement aux cliniciens puisqu'au lieu de plusieurs jours, ces résultats sont rendus dans la journée. Identifier un *Escherichia coli* ou un *Fusobacterium necrophorum* se fait à la même vitesse et avec le même niveau de précision. J'ai pu en mesurer l'impact sur le secteur des hémocultures. Le délai moyen de rendu de résultats a été divisé par deux. Non pas par gain de temps sur les *Escherichia coli*, les entérobactéries ou les staphylocoques, mais parce qu'avant, en voulant avoir une identification maximale, nous étions parfois très longs sur certaines bactéries. Les cliniciens s'en sont aperçus. Nous avons communiqué avec certains services cliniques qui ont compris et constaté l'accélération du rendu des résultats et en ont compris l'intérêt. Un laboratoire qui s'équipe doit prendre en compte cette opportunité d'informer les cliniciens.

## Publi-reportage

### **Spectra Biologie : La grande majorité des identifications est donc aujourd'hui faite par spectrométrie de masse ?**

**B. Jaulhac :** Oui, même si nous avons fait « paradoxalement » le choix de ne pas passer les *Escherichia coli* des urocultures. Il était plus efficient de se contenter d'une identification sur milieu chromogène. Nous avons validé, analyse de risque à l'appui, que les *Escherichia coli*, qui représentent la moitié des entérobactéries qui elles-mêmes représentent la moitié des urines positives, pouvaient être identifiées uniquement au coup d'œil sur certains milieux chromogènes. Même si la spectrométrie de masse est ultra rapide, cette méthode est encore plus rapide. La technicienne prend la boîte et coche d'emblée « *Escherichia coli* » sur la feuille ultérieurement scannée. Nous avons fait un travail de validation de cela que nous avons publié.

### **Spectra Biologie : La méthode s'est aussi imposée pour les spécialités d'hygiène et de parasito-mycologie ?**

**B. Jaulhac :** Pour le laboratoire d'hygiène, cela a été aussi une révolution. Les *Legionella* environnementales, par exemple, sont très rapidement et précisément identifiables par prélèvement d'1/4 de la colonie suspecte. Ensuite, la possibilité d'identifier les levures a permis au laboratoire de parasitologie d'utiliser la technique. Nous sommes actuellement sur l'application aux filamenteux et nous travaillons sur une prochaine évolution qui nous permettra de passer de la biologie moléculaire à la spectrométrie de masse pour l'identification des mycobactéries. La méthode étant plus souple, nous pourrions l'utiliser chaque fois qu'une souche aura poussé, plutôt qu'une identification hebdomadaire par biologie moléculaire. Les résultats seront donc également rendus plus rapidement. Cela apporte de la fluidité, cela rend le travail plus intéressant.

### **Spectra Biologie : Cette méthode est-elle aussi profitable à vos travaux universitaires ?**

**B. Jaulhac :** Prenons par exemple, le cas des staphylocoques à coagulase négative. La difficulté d'identifier par une méthode traditionnelle ce groupe hétérogène d'une trentaine d'espèces de bactéries, a conduit beaucoup de laboratoires à ne pas aller au-delà avec une méthode de biologie moléculaire lourde. Cette situation ayant disparu dans notre laboratoire, il nous paraît maintenant intéressant, sur le plan universitaire, d'avoir un nom d'espèce et de répertorier ce que l'on sort en terme de contaminants. Nous commençons maintenant à exploiter la base de données alimentée par ces identifications. Cette exploitation est intéressante notamment pour des prélèvements profonds. Nous sommes centre de référence associé pour les infections ostéo articulaires en Alsace. Les staphylocoques fournissent un bon contingent d'étiologie des infections ostéo articulaires nosocomiales. La spectrométrie de masse nous donne les moyens, sans augmentation de coût, de prélever toutes les colonies présentes qui peuvent avoir des présentations morphologiques différentes. Que l'on fasse une ou 5 colonies pour un patient, le temps technicien est quasi identique et c'est pour nous l'occasion d'être plus curieux. Nous sommes ainsi en mesure d'étudier un polymorphisme au sein d'un prélèvement important. Nous avons communiqué avec les chirurgiens orthopédiques du centre de référence. Ils font cinq prélèvements différents et nous n'hésitons

pas à prélever autant de morphotypes de colonies que possible pour les identifier. C'est une sécurité importante avant d'engager de longs traitements. Nous pouvons aussi recouper entre les prélèvements si des espèces rares de staphylocoques apparaissent plusieurs fois, tout cela dans un délai rapide. Auparavant, l'identification était un processus au moins aussi long que la culture, voire plus long dès que l'on avait affaire à des bactéries un peu particulières. Aujourd'hui, le défi est d'avoir les bactéries en culture. Lorsque nous les avons en culture, les décisions peuvent être prises dans la demi-heure ou dans l'heure qui suit (antibiogramme ou non, comparaison en termes d'épidémiologie par exemple).

### **Spectra Biologie : Vous échangez avec d'autres utilisateurs ?**

**B. Jaulhac :** Il existe un Club des utilisateurs BRUKER qui organise au moins une réunion annuelle à laquelle une à deux personnes de notre laboratoire participent. Un des gros laboratoires privés de Strasbourg s'est équipé du même Spectromètre de masse Bruker MALDI Biotyper™ que nous pour pouvoir échanger en cas de besoin. BRUKER nous permet aussi de créer nos propres bases de données. Nous sommes en train de constituer une base de données des espèces de *Borrelia*. Cette bactérie ne pousse qu'en milieu liquide et nous avons trouvé la façon de pouvoir utiliser la spectrométrie de masse pour sa détection. Cela met en évidence que cette technique s'affranchit totalement du fait qu'une bactérie soit métaboliquement peu active. Les différentes espèces de *Borrelia* sont très bien identifiées. Cette base de données va pouvoir se constituer au niveau européen, la dernière version de logiciel nous permettant d'échanger les données entre différents laboratoires travaillant en Europe sur ce pathogène. Il y a donc d'une part ce que BRUKER centralise et propose avec le marquage CE IVD et d'autre part ce que les laboratoires peuvent enrichir et échanger dans le cadre de leurs recherches translationnelles, sans marquage CE IVD, susceptibles d'être accréditées en portée B. Nous pouvons partager le travail avec nos collègues allemands notamment, chez qui BRUKER est très implanté, en utilisant nos collections.

### **Spectra Biologie : En conclusion, quel regard portez-vous sur la spectrométrie de masse en microbiologie ?**

**B. Jaulhac :** Cette nouvelle technique est sans conteste une révolution pour la microbiologie.



- Pr Benoit Jaulhac – Laboratoire de bactériologie  
3, rue Koeberlé – 67000 Strasbourg – Tél. : +33 (0)3 90 24 37  
Contact : jaulhac@unistra.fr
- Bruker – 34 rue de l'Industrie – BP 10002 – 67166 Wissembourg Cedex  
Tél. : +33 (0)3 88 73 69 81 – Fax : +33 (0)3 88 73 68 79
- Contact : alix.beckensteiner@bruker.fr – www.bruker.fr